

ARTIFICIAL SKIN

Publication number: JP2000125855 (A)

Publication date: 2000-05-09

Inventor(s): MORIKAWA NORIYUKI; MOROTA KATSUYASU; MORITA SHINICHIRO; NISHIMURA YOSHIHIKO; SUZUKI SHIGEHIKO +

Applicant(s): GUNZE KK +

Classification:

- international: A61F2/10; A61L27/00; A61L27/60; C12N5/07; C12N5/071; A61F2/10; A61L27/00; C12N5/07; C12N5/071; (IPC1-7): A61F2/10; A61L27/00; C12N5/06

- European: A61L27/60

Application number: JP19980319783 19981021

Priority number(s): JP19980319783 19981021

Abstract of JP 2000125855 (A)

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an artificial skin having features close to human skin. **SOLUTION:** The manufacturing method for an artificial skin comprises following process: a process for seeding fibroblasts in a sponge of a bio-compatible material, having large pore sizes and highly cross linked, followed by culturing; a process for seeding pigment cells on a sponge of a bio-compatible material, having small pore sizes and lightly cross linked, followed by culturing; and a process for seeding keratinization cells on the sponge containing the pigment cells and lightly cross linked, followed by culturing. This artificial skin has a sponge layer consisting of a bio-compatible material, having fibroblasts in it and highly cross linked, and a surface layer containing keratinization cells. The artificial skin also has pigment cells in a dispersed state in the lower most part of the keratinization cell-containing surface layer.

.....
Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) **公開特許公報 (A)**

(11)特許出願公開番号

特開2000-125855

(P2000-125855A)

(43)公開日 平成12年5月9日(2000.5.9)

(51)Int.Cl.*

C 12 N 5/06

A 61 F 2/10

A 61 L 27/00

識別記号

F I

テマコード*(参考)

C 12 N 5/00

E 4 B 0 6 5

A 61 F 2/10

4 C 0 8 1

A 61 L 27/00

C 4 C 0 9 7

審査請求 未請求 請求項の数 6 FD (全 7 頁)

(21)出願番号

特願平10-319783

(71)出願人 000001339

グンゼ株式会社

京都府綾部市育野町膳所1番地

(22)出願日

平成10年10月21日(1998.10.21)

(72)発明者 森川 訓行

京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グンゼ株式会社研究開発部内

(72)発明者 諸田 勝保

京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グンゼ株式会社研究開発部内

(74)代理人 100065215

弁理士 三枝 英二 (外10名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 人工皮膚

(57)【要約】

【課題】ヒトの皮膚の状態と近い人工皮膚を提供する。

【解決手段】孔径の大きい生体親和性材料からなる高架橋処理されたスポンジ内に線維芽細胞を播種して培養する工程、孔径の小さい生体親和性材料からなる低架橋処理されたスポンジ上に色素細胞を播種して培養する工程、該色素細胞を含む低架橋処理スポンジ上に角化細胞を播種して培養する工程を含むことを特徴とする人工皮膚の製造法；及び内部に線維芽細胞を有する生体親和性材料からなる高架橋処理されたスポンジ層と角化細胞を含む表皮層を有する人工皮膚であって、角化細胞を含む表皮層の最下部に色素細胞を分散状態で有する人工皮膚。

図面代用写真(カラー)



【特許請求の範囲】

【請求項1】孔径の大きい生体親和性材料からなる高架橋処理されたスponジ内に線維芽細胞を播種して培養する工程、孔径の小さい生体親和性材料からなる低架橋処理されたスponジ上に色素細胞を播種して培養する工程、該色素細胞を含む低架橋処理スponジ上に角化細胞を播種して培養する工程を含むことを特徴とする人工皮膚の製造法。

【請求項2】角化細胞とともにランゲルハンス細胞を播種することを特徴とする請求項1記載の人工皮膚の製造法。

【請求項3】角化細胞を、気液界面培養して角質層を形成すること特徴とする請求項1または2に記載の人工皮膚の製造法。

【請求項4】内部に線維芽細胞を有する生体親和性材料からなる高架橋処理されたスponジ層と角化細胞を含む表皮層を有する人工皮膚であって、角化細胞を含む表皮層の最下部に色素細胞を分散状態で有する人工皮膚。

【請求項5】表皮層にランゲルハンス細胞をさらに含む請求項3に記載の人工皮膚。

【請求項6】表皮層に角質層を含む請求項4または5に記載の人工皮膚。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、人工皮膚及びその製造法に関する。

【0002】

【従来の技術及びその課題】人工皮膚は、皮膚の組織学的研究モデルとして従来盛んに研究されている。例えば、特開平9-201410号は、色素細胞とケラチン細胞を混合して播種した人工皮膚を開示している。しかしながら、実際の皮膚においては、色素細胞は表皮と真皮の界面に存在しており、該公報の人工皮膚では、実際のヒトの皮膚とは構造的に相違している。

【0003】特開平8-89239号公報は、孔径の異なる2種のコラーゲンスponジを積層し、下層に線維芽細胞を、上層に角化細胞を播種し、上層のコラーゲンスponジを溶解除去することにより、線維芽細胞と角化細胞が積層した人工皮膚を開示する。該人工皮膚は、例えば皮膚刺激性試験などの用途には使用することができるが、外観が白く、実際の皮膚とは異なるものであった。

【0004】本発明は、実際の皮膚に類似した機能及び外観を有する人工皮膚及びその製造法を提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記の人工皮膚及びその製造法に関する。

【0006】項1. 孔径の大きい生体親和性材料からなる高架橋処理されたスponジ内に線維芽細胞を播種して培養する工程、孔径の小さい生体親和性材料からなる

低架橋処理されたスponジ上に色素細胞を播種して培養する工程、該色素細胞を含む低架橋処理スponジ上に角化細胞を播種して培養する工程を含むことを特徴とする人工皮膚の製造法。

【0007】項2. 角化細胞とともにランゲルハンス細胞を播種することを特徴とする項1記載の人工皮膚の製造法。

【0008】項3. 角化細胞を、気液界面培養して角質層を形成すること特徴とする項1または2に記載の人工皮膚の製造法。

【0009】項4. 内部に線維芽細胞を有する生体親和性材料からなる高架橋処理されたスponジ層と角化細胞を含む表皮層を有する人工皮膚であって、角化細胞を含む表皮層の最下部に色素細胞を分散状態で有する人工皮膚。

【0010】項5. 表皮層にランゲルハンス細胞をさらに含む項3に記載の人工皮膚。

【0011】項6. 表皮層に角質層を含む項4または5に記載の人工皮膚。

【0012】項1の製造法では、孔径の大きい生体親和性材料からなる高架橋処理されたスponジ内に線維芽細胞を播種して培養する工程と、孔径の小さい生体親和性材料からなる低架橋処理されたスponジ上に色素細胞を播種して培養する工程を並行して行い、その後線維芽細胞を有する高架橋処理されたスponジ上に色素細胞を有する低架橋処理されたスponジを載置し、該色素細胞を含む低架橋処理スponジ上に角化細胞を播種して培養する工程を行ってもよい；あるいは、孔径の大きい生体親和性材料からなる高架橋処理されたスponジ内に線維芽細胞を播種して培養する工程を行った後、線維芽細胞を含む高架橋処理されたスponジ上に孔径の小さい生体親和性材料からなる低架橋処理されたスponジを載置し、該低架橋処理されたスponジ上に色素細胞を播種して培養する工程及び該色素細胞を含む低架橋処理スponジ上に角化細胞を播種して培養する工程を順次行ってもよい。項1の方法には、これらの方法が含まれる。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明において、色素細胞、線維芽細胞（特に真皮由来の線維芽細胞）、角化細胞は、市販品の各種細胞株を利用することができるが、動物、特にヒトの皮膚から得たものを培養して調製してもよい。特に、臨床的な皮膚移植に利用する場合には、皮膚移植する部分以外の患者皮膚由来の色素細胞、線維芽細胞、角化細胞を用いて培養するのが好ましい。

【0014】生体親和性材料としては、コラーゲン（I型、II型、III型、IV型）、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、フィブロネクチン、ラミニン、ヒアルロン酸、キトサン、EHSマウス腫瘍可溶化抽出物等が例示でき、好ましくはコラーゲン（I型、II型、III型、IV型）である。

【0015】生体親和性材料からなるスponジの製造法としては、これまでに多くの方法が開示されており、それらを利用することができます。例えばコラーゲンスponジの製造法は、特開平5-43734号公報に開示されているように、コラーゲン水溶液に脂溶性有機溶媒（例えばクロロホルム、塩化メチレン等のハロゲン化炭化水素、酢酸エチルなどのエステル類、THF、ジオキサンなどのエーテル類、ベンゼン、トルエンなどの芳香族炭化水素、メタノール、エタノール、イソプロパノールなどのアルコール類など）を添加し、ホモジナイズして発泡させた後、凍結乾燥する方法が例示できる。

【0016】スponジの架橋方法としては、グルタルアルデヒドなどのジアルデヒド、ホルムアルデヒドなどのモノアルデヒド、ヘキサメチレンジイソシアート、トリレンジイソシアートなどのジイソシアート類、エチレングリコールジグリシジルエーテルのようなジエポキシ化合物、さらにカルボジイミド塩酸塩のような脱水縮合剤を用いることができ、好ましくはグルタルアルデヒドを用いることができる。或いは、凍結乾燥したコラーゲンスponジを真空減圧下、105°C程度の温度下にて24時間程度加熱処理することにより熱脱水架橋を行うことができる。

【0017】本発明において、高架橋処理されたスponジとは、本発明の人工皮膚の製造時にはほとんど或いは全く分解されないが、ヒトに移植したような場合には、ヒト細胞由来の酵素により徐々に分解されるようなスponジである。このような高架橋処理されたスponジは、例えば生体親和性材料の熱脱水架橋を行い、形状の安定性を高めておいた後、グルタルアルデヒド溶液のような架橋剤で処理して製造するのが好ましいが、コラーゲンなどの生体親和性材料の溶液にグルタルアルデヒドのような架橋剤を加えて架橋反応を行った後、凍結乾燥により得ることもできる。高架橋処理されたスponジの孔径は好ましくは50 μm以上、より好ましくは80～95 μmであり、高架橋処理されたスponジの厚みは1～5 mm程度である。

【0018】本発明において、低架橋処理されたスponジとは、色素細胞及び角化細胞の培養の際に徐々に分解されるスponジであり、好ましくは、色素細胞及び角化細胞の培養が終了した時点で低架橋処理されたスponジはほとんど或いは全く残っていないのが好ましい。低架橋処理されたスponジの孔径は好ましくは30 μm以下、より好ましくは5～20 μmであり、低架橋処理されたスponジの厚みは1～2 mm程度が好ましい。スponジの低架橋処理は、例えばコラーゲンなどの生体親和性材料の水溶液に有機溶媒（例えばエタノール）を添加し、凍結乾燥後、真空減圧下に熱脱水架橋処理を行うことにより得ることができる。

【0019】該低架橋スponジは、好ましくは、色素細胞と角化細胞を播種して細胞が接着し安定するまでの間

は分解することなく安定していて、その後、角化細胞の分泌するコラゲナーゼにより徐々に分解され、角化細胞が分化重層化するころには消失するものである。

【0020】本発明の方法において、線維芽細胞、特に真皮由来の線維芽細胞を高架橋処理されたスponジに播種すると、線維芽細胞は高架橋処理されたスponジ内に落ち込んでその孔内で三次元的に増殖する。該スponジは高架橋処理されているため、人工皮膚の製造工程においては分解抵抗性を示し、該スponジの分解消失は起こらない。培養の条件は特に限定されないが、例えば線維芽細胞をDME+10%血清培地に懸濁し、高架橋スponジ上に4～6×10⁵ cells/cm²程度の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまでDME+10%血清培地、MEM+10%血清培地、などの培地に線維芽細胞を浸した状態で37°C付近、5%CO₂下で2～24時間程度培養することができる。線維芽細胞がその中に増殖した高架橋処理されたスponジは、真皮層に相当する。

【0021】一方、色素細胞を低架橋処理されたスponジに播種すると、低架橋処理されたスponジの孔径は小さいため、色素細胞は低架橋スponジ上に残存する。色素細胞は、例えばMGM3培地に懸濁し、このスponジ上に0.1～2.0×10⁵ cells/cm²程度の濃度で播種し、MGM3培地などの培地で37°C付近、5%CO₂下で2～24時間程度培養される。なお、播種される色素細胞の濃度は、人工皮膚の目的によって任意に変更可能であり、実際のヒトの皮膚に近い程度のメラニン細胞を形成するような濃度であるのが好ましい。

【0022】線維芽細胞を播種した高架橋スponジ上に色素細胞を播種したスponジを重ね、角化細胞を色素細胞及び低架橋スponジ上に播種する。角化細胞は、例えばK110培地、KGM培地などの培地に懸濁し、ヒト色素細胞を播種・培養した低架橋スponジ上に、4～6×10⁵ cells/cm²程度の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で2～24時間培養する。色素細胞及び角化細胞の培養を継続すると、低架橋スponジは徐々にコラゲナーゼで加水分解される。しかしながら、色素細胞及び角化細胞の培養の初期時点では低架橋スponジは一部分解されるのみであり、全部が分解されることはない。次に、培地をDME+5%血清培地などの培地に変更し、ヒト角化細胞が空気中に出るように培地の量を調整しながら、5～7日間培養することで低架橋スponジが分解された人工皮膚を得ることができる。

【0023】

【発明の効果】本発明の人工皮膚は、色素細胞の位置が実際のヒトの皮膚と同一であり、外観上もヒトの皮膚とよく似ており、例えば脱色素性疾患の研究及び治療、その他皮膚移植が必要とされる全ての疾患の治療に応用できる。

【0024】さらに、本発明の人工皮膚は、色素細胞の位置が実際のヒトの皮膚と同一であり、紫外線照射に対

する反応もヒトの皮膚とほぼ同じなので、紫外線照射による皮膚損傷の保護作用を検討するなどの化粧品、医薬品に関する研究のモデルとしても優れている。

【0025】

【実施例】以下、本発明を実施例及び比較例を用いてより詳細に説明する。

【0026】実施例1

(1) 高架橋コラーゲンスponジの作製

0.3%濃度のアテロコラーゲン水溶液 (pH 3) に5%濃度になるようにクロロホルムを添加し、ホモジナイザーを用いて4500rpmで10分間ホモジナイズしたものをステンレス製枠に流し込み、-40°Cで凍結した。これを凍結乾燥した後、真空減圧下、105°Cで24時間熱脱水架橋を加えた後、0.2%グルタルアルデヒド溶液に4°Cで24時間浸漬することにより化学架橋を導入した。これを再び凍結乾燥して孔径90μm、厚さ2.0mmの高架橋コラーゲンスponジを得た。

【0027】(2) 低架橋コラーゲンスponジの作製

0.3%濃度のアテロコラーゲン水溶液 (pH 3) に0.5%濃度になるようにエタノールを添加し、プラスチック製シャーレに流し込み、-135°Cで凍結した。これを凍結乾燥した後、真空減圧下、105°Cで24時間熱脱水架橋し、孔径15μm、厚さ0.5mmの低架橋コラーゲンスponジを得た。

【0028】(3) ヒト線維芽細胞の播種および培養

48ウェル培養プレートに、(1)で作製した高架橋コラーゲンスponジを敷き詰め、DME+10%血清培地で該スponジをなじませて余剰の培地を吸引した後、クロネティクス社から購入したヒト線維芽細胞をDME+10%血清培地(100~200μl程度)に懸濁し、このスponジ上に4.8×10⁵ cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0029】(4) ヒト色素細胞の播種および培養

(3)で作製したヒト線維芽細胞を播種したスponジを24ウェル培養プレートに移した後、この上に(2)で作製した低架橋コラーゲンスponジ上に内径8mmのプラスチック製リングを載せたものを重ね、クロネティクス社から購入したヒト色素細胞をMGMB培地に懸濁し、このスponジ上に1.6×10⁶ cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0030】(5) ヒト角化細胞の播種および培養

クロネティクス社から購入したヒト角化細胞をK110培地に懸濁し、(4)で作製したヒト色素細胞を播種したスponジ上に、4.8×10⁵ cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0031】次に、培地をDME+5%血清培地に変更し、ヒト角化細胞が空気中に出るように培地の量を調整しながら、5日間培養を続けた後、所望の培養皮膚を得た。

【0032】実施例2

(1) 高架橋コラーゲンスponジの作製

0.3%濃度のアテロコラーゲン水溶液 (pH 3) に5%濃度に

なるようにクロロホルムを添加し、ホモジナイザーを用いて4500rpmで10分間ホモジナイズしたものをステンレス製枠に流し込み、-40°Cで凍結した。これを凍結乾燥した後、真空減圧下、105°Cで24時間熱脱水架橋を加えた後、0.2%グルタルアルデヒド溶液に4°Cで24時間浸漬することにより化学架橋を導入した。これを再び凍結乾燥して孔径90μm、厚さ2.0mmの高架橋コラーゲンスponジを得た。

【0033】(2) 低架橋コラーゲンスponジの作製

0.3%濃度のアテロコラーゲン水溶液 (pH 3) に0.5%濃度になるようにエタノールを添加し、プラスチック製シャーレに流し込み、-135°Cで凍結した。これを凍結乾燥した後、真空減圧下、105°Cで24時間熱脱水架橋し、孔径15μm、厚さ0.5mmの低架橋コラーゲンスponジを得た。

【0034】(3) ヒト線維芽細胞の播種および培養

48ウェル培養プレートに、(1)で作製した高架橋コラーゲンスponジを敷き詰め、DME+10%血清培地で該スponジをなじませて余剰の培地を吸引した後、クロネティクス社から購入したヒト線維芽細胞をDME+10%血清培地(100~200μl程度)に懸濁し、このスponジ上に4.8×10⁵ cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0035】(4) ヒト色素細胞の播種および培養

48ウェル培養プレートに、(2)で作製した低架橋コラーゲンスponジを敷き詰め、このスponジ上に内径8mmのプラスチック製リングを載せ、クロネティクス社から購入したヒト色素細胞をMGMB培地に懸濁し、このスponジ上に1.6×10⁶ cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。なお、ヒト色素細胞はMGMB培地に浸かった状態であった。

【0036】(5) ヒト角化細胞の播種および培養

(3)で作製したヒト線維芽細胞を播種したスponジを24ウェル培養プレートに移した後、この上に(4)で作製したヒト色素細胞を播種したスponジを重ね、クロネティクス社から購入したヒト角化細胞をK110培地に懸濁し、(4)のスponジ上に4.8×10⁵ cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0037】次に、培地をDME+5%血清培地に変更し、ヒト角化細胞が空気中に出るように培地の量を調整しながら、5日間培養を続けた後、所望の培養皮膚を得た。

【0038】以上のようにして得た培養皮膚に対しDOPA反応を行った後、ホルマリン固定し、次いでH&E染色を行い観察したところ、ヒト線維芽細胞は高架橋コラーゲンスponジ中で三次元的によく伸展していた。

【0039】一方、気液界面培養することで、低架橋コラーゲンスponジはほぼ消失し、ヒト角化細胞は分化重層化し角質層も形成された。

【0040】また、DOPA反応陽性すなわち色素形成機能を有するヒト色素細胞が、組織学的に適切な位置である

表皮基底層に確認され、実際のヒト皮膚に非常によく似た形態が得られた。

【0041】比較例1

ヒト色素細胞を含有しない培養皮膚の作製

(1) 高架橋コラーゲンスponジの作製

0.3%濃度のアテロコラーゲン水溶液(pH 3)に5%濃度になるようにクロロホルムを添加し、ホモジナイザーを用いて4500rpmで10分間ホモジナイズしたものをステンレス製枠に流し込み、-40°Cで凍結した。これを凍結乾燥した後、真空減圧下、105°Cで24時間熱脱水架橋を加えた後、0.2%グルタルアルデヒド溶液に4°Cで24時間浸漬することにより化学架橋を導入した。これを再び凍結乾燥して孔径90μm、厚さ2.0mmの高架橋コラーゲンスponジを得た。

【0042】(2) 低架橋コラーゲンスponジの作製

0.3%濃度のアテロコラーゲン水溶液(pH 3)に0.5%濃度になるようにエタノールを添加し、プラスチック製シャーレに流し込み、-135°Cで凍結した。これを凍結乾燥した後、真空減圧下、105°Cで24時間熱脱水架橋し、孔径15μm、厚さ0.5mmの低架橋コラーゲンスponジを得た。

【0043】(3) ヒト線維芽細胞の播種および培養

48ウェル培養プレートに、(1)で作製した高架橋コラーゲンスponジを敷き詰め、クロネティクス社から購入したヒト線維芽細胞をDME+10%血清培地に懸濁し、このスponジ上に 4.8×10^5 cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0044】(4) ヒト角化細胞の播種および培養

(3)で作製したヒト線維芽細胞を播種したスponジを24ウェル培養プレートに移した後、この上に(2)で作製した低架橋コラーゲンスponジ上に内径8mmのプラスチック製リングを載せたものを重ね、クロネティクス社から購入したヒト角化細胞をK110培地に懸濁し、このス

ponジ上に 4.8×10^5 cells/cm²の濃度で播種し、細胞が完全に接着するまで37°C、5%CO₂下で一晩培養した。

【0045】次に、培地をDME+5%血清培地に変更し、ヒト角化細胞が空気中に出るように培地の量を調整しながら、5日間培養を続けた後、所望の培養皮膚を得た。

【0046】以上のようにして得たヒト色素細胞を含有しない培養皮膚に対しDOPA反応を行った後、ホルマリン固定し、次いでH&E染色を行い観察した。その結果、ヒト色素細胞を含有する培養皮膚と同様に、ヒト線維芽細胞は高架橋コラーゲンスponジ中で三次元的によく伸展していた。また、気液界面培養することで、低架橋コラーゲンスponジはほぼ消失し、ヒト角化細胞は分化重層化し角質層も形成された。

【0047】しかしながら、このヒト色素細胞を含有しない培養皮膚においては、DOPA反応陽性の褐色に染色された細胞は認められず、ヒト色素細胞の有無による培養皮膚の形態の違いは明らかである。

【0048】試験例1

実施例1、2及び比較例1で得られた人工皮膚について、紫外線(UVA(365nm)、UVB(302nm))を照射すると、実施例1、2の人工皮膚にはメラニン産生に伴う褐色の斑点が認められたが、比較例1の人工皮膚にはこのような斑点は認められなかった。このことは、本発明の人工皮膚は、紫外線刺激による皮膚刺激の試験モデルとして優れていることを示している。

【図面の簡単な説明】

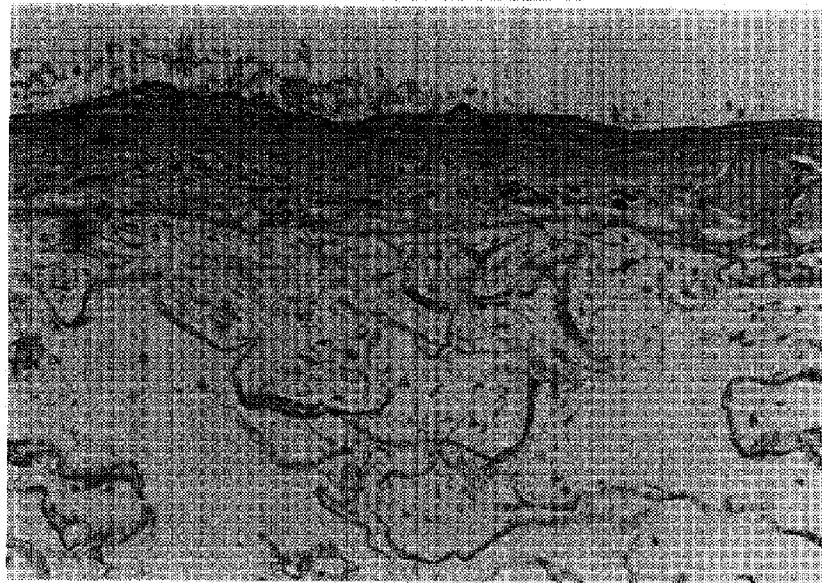
【図1】色素細胞を組み込んだ人工皮膚の図面代用写真である。

【図2】色素細胞を組み込んでいない人工皮膚の図面代用写真である。

【図3】ヒトの皮膚の図面代用写真である。

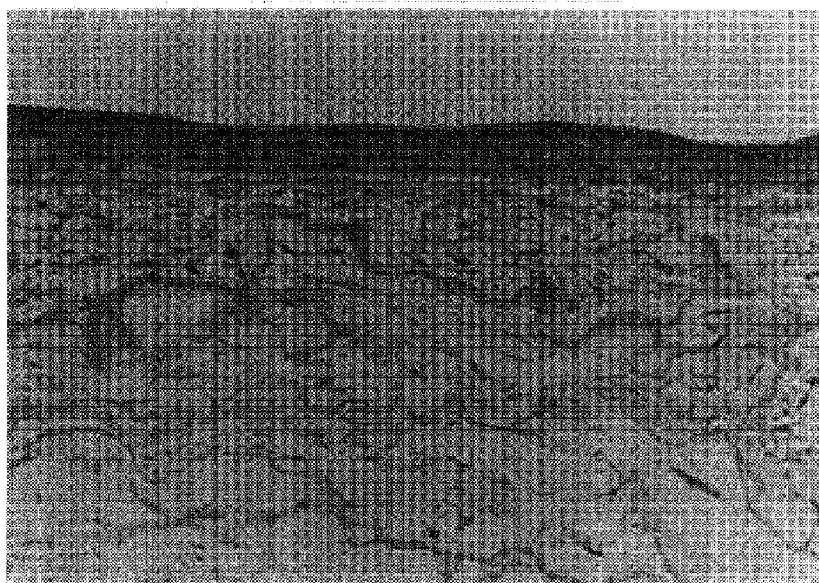
【図1】

画面代用写真(カラー)



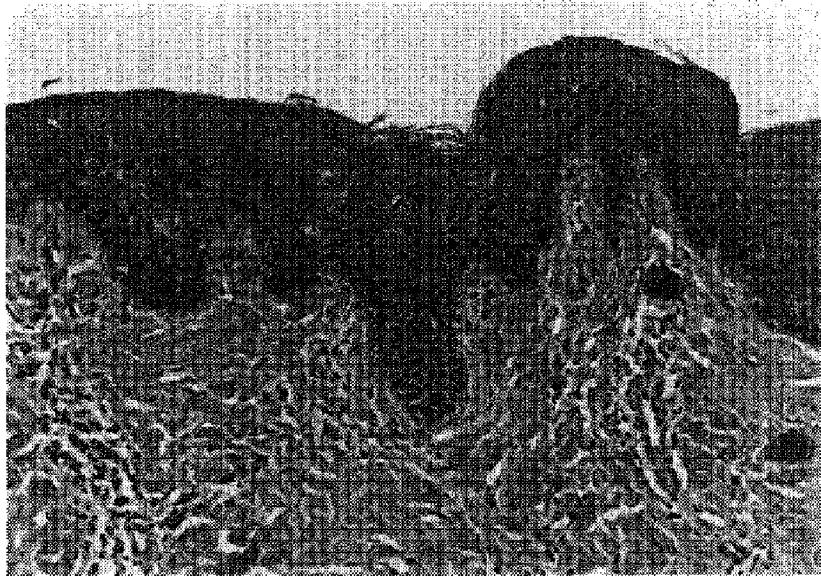
【図2】

画面代用写真(カラー)



【図3】

図面代用写真(カラー)



フロントページの続き

(72)発明者 森田 真一郎 F ターム(参考) 4B065 AA93X CA24 CA44
京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グン 4C081 AB19 BA16 BB04 CC05 CD041
ゼ株式会社研究開発部内 CD081 CD091 CD121 CD151
(72)発明者 西村 善彦 CD171 CD34 DA02 DA12
京都府京都市左京区北白川西瀬ノ内町25番
地 DB03 DB06 DC03 DC04 DC05
(72)発明者 鈴木 茂彦 DC14 EA02 EA06
京都府京都市左京区岩倉中町228-6 4C097 AA23 CC02 CC03 EE16 EE19
FF06 FF17 FF20